

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

An:

## PCT

siehe Formular PCT/ISA/220  
MALWALD  
Patentanwälte GmbH

16. Aug. 2005

AMT MÜNCHEN

FRIST 22.10.06 N (not. H)

## SCHRIFTLICHER BESCHIED DER INTERNATIONALEN RECHERCHENBEHÖRDE (Regel 43bis.1 PCT)

Absendedatum

(Tag/Monat/Jahr) siehe Formular PCT/ISA/210 (Blatt 2)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

siehe Formular PCT/ISA/220

### WEITERES VORGEHEN

siehe Punkt 2 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/003063

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)

22.03.2005

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)

22.03.2004

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK

C12N9/22

Anmelder

STRATHMANN BIOTEC AG

### 1. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- ☒ Feld Nr. I Grundlage des Bescheids
- ☒ Feld Nr. II Priorität
- ☐ Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- ☐ Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- ☒ Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Regel 43bis.1(a)(i) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- ☐ Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen
- ☐ Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- ☐ Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

### 2. WEITERES VORGEHEN

Wird ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt, so gilt dieser Bescheid als schriftlicher Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde ("IPEA"); dies trifft nicht zu, wenn der Anmelder eine andere Behörde als diese als IPEA wählt und die gewählte IPEA dem Internationale Büro nach Regel 66.1bis b) mitgeteilt hat, daß schriftliche Bescheide dieser Internationalen Recherchenbehörde nicht anerkannt werden.

Wenn dieser Bescheid wie oben vorgesehen als schriftlicher Bescheid der IPEA gilt, so ist der Anmelder aufgefordert, bei der IPEA vor Ablauf von 3 Monaten ab dem Tag, an dem das Formblatt PCT/ISA/220 abgesandt wurde oder vor Ablauf von 22 Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft, eine schriftliche Stellungnahme und, wo dies angebracht ist, Änderungen einzureichen.

Weitere Optionen siehe Formblatt PCT/ISA/220.

### 3. Nähere Einzelheiten siehe die Anmerkungen zu Formblatt PCT/ISA/220.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt  
D-80298 München  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Bassias, I

Tel. +49 89 2399-8106



---

**Feld Nr. I Grundlage des Bescheids**

---

1. Hinsichtlich der **Sprache** ist der Bescheid auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache erstellt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
  - ☐ Der Bescheid ist auf der Grundlage einer Übersetzung aus der Originalsprache in die folgende Sprache erstellt worden, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (gemäß Regeln 12.3 und 23.1 b)).
2. Hinsichtlich der **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz**, die in der internationalen Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bescheid auf folgender Grundlage erstellt worden:
  - a. Art des Materials
    - ☒ Sequenzprotokoll
    - ☐ Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll
  - b. Form des Materials
    - ☒ in schriftlicher Form
    - ☒ in computerlesbarer Form
  - c. Zeitpunkt der Einreichung
    - ☒ in der eingereichten internationalen Anmeldung enthalten
    - ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht
    - ☐ bei der Behörde nachträglich für die Zwecke der Recherche eingereicht
3. ☐ Wurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, daß die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt bzw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.
4. Zusätzliche Bemerkungen:

---

**Feld Nr. II Priorität**

---

1. ☒ Die Gültigkeit des Prioritätsanspruchs wurde nicht in Betracht gezogen, da die Internationale Recherchenbehörde über keine Abschrift der früheren Anmeldung oder, falls benötigt, Übersetzung der früheren Anmeldung verfügt. Dieser Bescheid wurde trotzdem unter der Annahme erstellt, dass der maßgebliche Zeitpunkt (Regeln 43bis.1 und 64.1) das beanspruchte Prioritätsdatum ist.
2. ☐ Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung der beanspruchten Priorität erstellt worden, da sich der Prioritätsanspruch als ungültig erwiesen hat (Regeln 43bis.1 und 64.1). Für die Zwecke dieses Bescheids gilt daher das vorstehend genannte internationale Anmeldedatum als das maßgebliche Datum.
3. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**SCHRIFTLICHER BESCHEID DER  
INTERNATIONALEN RECHERCHEBEHÖRDE**

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2005/003063

---

**Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Regel 43bis.1(a)(i) hinsichtlich der Neuheit, der  
erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur  
Stützung dieser Feststellung**

---

**1. Feststellung**

Neuheit	Ja: Ansprüche 1-20,22-26 Nein: Ansprüche 21,27
Erfinderische Tätigkeit	Ja: Ansprüche - Nein: Ansprüche 1-27
Gewerbliche Anwendbarkeit	Ja: Ansprüche: 1-27 Nein: Ansprüche: -

**2. Unterlagen und Erklärungen:**

**siehe Beiblatt**

**SCHRIFTLICHER BESCHEID  
DER INTERNATIONALEN  
RECHERCHEBEHÖRDE (BEIBLATT)**

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/003063

**Punkt V**

1. Die vorliegende Anmeldung handelt von einem Verfahren zur Herstellung einer rekombinanten, bovinen RNase A in Escherichia coli, wobei die kodierende DNA-Sequenz derart verändert wurde, dass sie an die bevorzugte Kodonverwendung von E. coli angepasst wurde.
2. Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:
  - D1: OKOROKOV ANDREI L ET AL: "An efficient system for active bovine pancreatic ribonuclease expression in Escherichia coli" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 6, Nr. 4, 1995, Seiten 472-480, XP002336571 ISSN: 1046-5928
  - D2: LELAND PETER A ET AL: "The ribonucleolytic activity of angiogenin" BIOCHEMISTRY, Bd. 41, Nr. 4, 29. Januar 2002 (2002-01-29), Seiten 1343-1350, XP002336572 ISSN: 0006-2960
  - D3: ROYTRAKUL SITTIRUK ET AL: "A rapid and simple method for construction and expression of a synthetic human growth hormone gene in Escherichia coli" JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, Bd. 34, Nr. 6, 30. November 2001 (2001-11-30), Seiten 502-508, XP002336573 ISSN: 1225-8687
3. Ein Verfahren zur Herstellung einer bovinen rekombinanten RNase A unter Anpassung der DNA-Sequenz an die bevorzugte Kodonverwendung des Expressionswirtes scheint aus dem Stand der Technik nicht bekannt zu sein.

Dennoch kann für die vorliegende Anmeldung keine erfinderische Tätigkeit anerkannt werden (Artikel 33(3) PCT). Der Grund hierfür wird im Folgenden erläutert:

Die bovine pankreatische RNase A ist ein sehr gut charakterisiertes Modellsystem. Zahlreiche Arbeiten existieren, die von der Expression des für die RNase A kodierenden Gens in heterologe Expressionswirte handeln. Verschiedene Optimierungsverfahren dazu sind bereits in umfangreicher Menge publiziert. Eine gute Zusammenfassung dieser Literatur kann der Beschreibung dieser Anmeldung (insbesondere S. 3 und 4) entnommen werden.

Exemplarisch daraus ist D1 herausgegriffen, eine Publikation die nahezu alle Merkmale des beanspruchten Verfahrens enthält. In diesem Dokument, das als der naheliegenste Stand der Technik betrachtet wird, wird u. A. die RNase A in E. coli unter Verwendung des phoA Signalpeptids der alkalischen Phosphatase und eines (hitze-)induzierbaren Promoters beschrieben.

Im Gegensatz zum Gegenstand der Anmeldung wurde jedoch in D1 die DNA nicht an die bevorzugte Kodonverwendung von E. coli angepasst.

Diese Kodonanpassung ist jedoch ein sehr gängiges Verfahren um die Expressionsausbeute in heterologe Wirte zu optimieren. Zahlreiche Publikationen beschreiben diese Methode. Exemplarisch werden hier D2 und D3 erwähnt. Aus beiden Dokumenten kann entnommen werden, dass die erwähnte Kodonanpassung zu einer höheren Expression des jeweiligen Gens führen kann. In D3 wird es am Beispiel des humanen Wachstumshormons demonstriert.

In D2 hingegen wurde die Kodonanpassung zur Expression von Angiogenin, ein Molekül, welches homolog zur bovinen pankreatischen RNase A ist, angewendet. Ein Fachmann, der die Expressionsmethode aus D1 kennt und der die Kodonanpassungsmethode aus D2 oder D3 studiert, würde mit hoher Erfolgserwartung versuchen, die Kodonanpassung auch für die Expression der RNase A anzuwenden. Dies würde zum beanspruchten Verfahren führen und daher könnte einem solchen Verfahren keine erfinderische Tätigkeit zugrunde liegen (Artikel 33(3) PCT).

Verschiedene Details, die den einzelnen abhängigen Ansprüchen entnommen werden, können das Verfahren nicht erfinderisch machen, da diese Details gängige Merkmale für einen Fachmann, der auf dem Gebiet der Expressionstechnik arbeitet, darstellen.

4. Der Gegenstand von Anspruch 21 beschreibt ein Produkt, das durch das Verfahren zu seiner Herstellung gekennzeichnet ist "product-by process". Ein derartiges Produkt kann nur dann gewährt werden, wenn es neu ist. Ein neues Verfahren, das zur Herstellung eines bereits bekannten Produktes führt, kann das Produkt nicht neu machen (s. Richtlinien, Teil C, III, 4.7b).

In der vorliegenden Anmeldung wird zwar die DNA-Sequenz, die für die RNase A kodiert verändert, jedoch wird dadurch nicht zwangsläufig die Aminosäure-Sequenz der RNase A verändert. Gemäss der Beschreibung (S.8, Z. 20-22) bleibt die Aminosäuresequenz des betreffenden Peptids gleich. Damit ist der RNase A,

wie sie in Anspruch 21 beansprucht wird nicht unterscheidbar von der natürlichen RNase A, oder von jeder rekombinanten RNase A, die natürliche Aminosäure-Sequenz aufweist. Das Verfahren, das zur Herstellung der betroffenen RNase A verwendet wird, verändert die RNase A an sich nicht. Aus diesem Grund ist der Gegenstand von Anspruch 21 nicht neu im Sinne von Artikel 33(2) PCT.

5. Die Nukleinsäuren mit den spezifischen Sequenzen scheinen aus dem Stand der Technik nicht bekannt zu sein. Trotzdem erfordert die Herstellung dieser Nukleinsäuren keine erfinderische Leistung und damit sind die Produkte auch nicht erfinderisch (Artikel 33(3) PCT). Die Sequenzen (Aminosäure- und Nukleinsäuresequenz) der pankreatischen, bovinen RNase A sind bereits bekannt. Unter der Accessionnummer AAB35594 (S. Beschreibung, S. 18, Z.11) können der NCBI-Datenbank die entsprechenden Daten entnommen werden. Des weiteren ist die bevorzugte Kodonverwendung von E. coli längstens bekannt. Verschiedene Internet-Adressen (s. Beschreibung S. 6, Z. 7-21) helfen die für E. coli günstigen Kodons einer Sequenz zu ermitteln. Mit Hilfe dieser Quellen bedarf es keiner erfinderischen Leistung die Nukleinsäuremoleküle mit den spezifischen Sequenzen herzustellen. Damit entsprechen weder die Nukleinsäuremoleküle (Ansprüche 23-25) noch deren Verwendung (Anspruch 26) den Erfordernissen von Artikel 33(3) PCT.
6. Die Verwendung der RNase A wie sie unter Anspruch 27 beschrieben wird ist nahe liegend (Artikel 33(3) PCT) oder kann sogar als nicht neu betrachtet werden (Artikel 33(2) PCT), wenn man davon ausgeht, dass die RNase A nicht neu ist. Diese beschriebene Verwendung ist die gängige Anwendung dieses Enzyms, die jedem Fachbuch für molekularbiologisch-technische Methoden entnommen werden kann.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/003063

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N9/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, INSPEC, WPI Data, PAJ, EMBASE, MEDLINE, Sequence Search, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	OKOROKOV ANDREI L ET AL: "An efficient system for active bovine pancreatic ribonuclease expression in Escherichia coli" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, vol. 6, no. 4, 1995, pages 472-480, XP002336571 ISSN: 1046-5928 the whole document	1-27
Y	LELAND PETER A ET AL: "The ribonucleolytic activity of angiogenin" BIOCHEMISTRY, vol. 41, no. 4, 29 January 2002 (2002-01-29), pages 1343-1350, XP002336572 ISSN: 0006-2960 the whole document	1-27
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☐ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 July 2005

Date of mailing of the international search report

16/08/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bassias, I

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/003063

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>ROYTRAKUL SITTIRUK ET AL: "A rapid and simple method for construction and expression of a synthetic human growth hormone gene in Escherichia coli"</p> <p>JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, vol. 34, no. 6, 30 November 2001 (2001-11-30), pages 502-508, XP002336573 ISSN: 1225-8687 the whole document</p>	1-27
A	<p>RAINES R. T.: "Ribonuclease A"</p> <p>CHEMICAL REVIEWS, vol. 98, no. 2, 1998, pages 1045-1065, XP002336574</p>	



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2005/003063

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N9/22

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, INSPEC, WPI Data, PAJ, EMBASE, MEDLINE, Sequence Search, CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	OKOROKOV ANDREI L ET AL: "An efficient system for active bovine pancreatic ribonuclease expression in Escherichia coli" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 6, Nr. 4, 1995, Seiten 472-480, XP002336571 ISSN: 1046-5928 das ganze Dokument	1-27
Y	LELAND PETER A ET AL: "The ribonucleolytic activity of angiogenin" BIOCHEMISTRY, Bd. 41, Nr. 4, 29. Januar 2002 (2002-01-29), Seiten 1343-1350, XP002336572 ISSN: 0006-2960 das ganze Dokument	1-27

-/--

<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen		<input type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie	
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>*E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>*P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p>		<p>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>*Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>	
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
18. Juli 2005		16/08/2005	
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Bassias, I	

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/003063

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>ROYTRAKUL SITTIRUK ET-AL: "A rapid and simple method for construction and expression of a synthetic human growth hormone gene in Escherichia coli"</p> <p>JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY,</p> <p>Bd. 34, Nr. 6,</p> <p>30. November 2001 (2001-11-30), Seiten 502-508, XP002336573</p> <p>ISSN: 1225-8687</p> <p>das ganze Dokument</p>	1-27
A	<p>RAINES R. T.: "Ribonuclease A"</p> <p>CHEMICAL REVIEWS,</p> <p>Bd. 98, Nr. 2, 1998, Seiten 1045-1065, XP002336574</p>	